

性信息素2,6-二氯酚在长角血蜱 交配行为中的作用*

刘敬泽^① 姜在阶^② 李仲来^② 杨亦萍^② 孙儒泳^②

(^①河北师范大学生物系, 石家庄 050016; ^②北京师范大学, 北京 100875)

摘要 长角血蜱 *Haemaphysalis longicornis* 的交配行为包括7个时期, 行为的完成依赖于性信息素的调节。生物测定表明: 雄蜱的行为反应受雌蜱分泌的性信息素影响。堵塞雌蜱盾窝其行为受到抑制, 点滴2,6-DCP或雌蜱盾窝腺提取物则被恢复。用气相色谱法测定了雌蜱盾窝腺中2,6-DCP的含量; 吸血后1~2天含量最高(11.12 ng/只); 吸血后3~5天即交配前下降交维持在一较恒定的水平; 吸血后6~7天即交配后明显降低; 饱血后检测不到2,6-DCP。2,6-DCP是长角血蜱性信息素的一种成分。

关键词 长角血蜱, 2,6-二氯酚, 交配行为

蜱类的许多行为由信息素(pheromone)调节, 以提高存活率、成功地寻找配偶和对宿主的识别^[1]。已发现的蜱类信息素有三类: 集合集息素(assembly pheromone); 聚集/叮咬信息素(aggregation/attachment pheromone)和性信息素(sex pheromone)^[2]。

性信息素最早由Berger等^[3]在美洲花蜱 *Amblyomma americanum*、有斑花蜱 *A. maculatum* 和变异革蜱 *Dermacentor variabilis* 中发现。后来在美洲花蜱中证明这种性信息素的化学成分是2,6-二氯酚(2,6-dichlorophenol, 简称2,6-DCP)^[4]。2,6-DCP由吸血的雌蜱释放, 刺激并吸引性活动的雄蜱, 从而成功地交配。软蜱和前沟类硬蜱不具有这种信息素, 2,6-DCP仅存在于后沟类硬蜱^[5]。尽管2,6-DCP在后沟类硬蜱中较普遍, 但并不是所有种类中都存在。如扇头蜱 *Rhipicephalus compositus*, *R. pulchellus*, *R. simus* 和 *R. appendiculatus* 中检测不到2,6-DCP, 四种的雄蜱对2,6-DCP没反应, 它们对苯酚和对甲酚有反应^[6]。2,6-DCP由雌蜱的盾窝腺产生^[7,8]。

本文以广泛分布于我国的长角血蜱 *Haemaphysalis longicornis* 为研究对象, 对其交配行为、吸血期2,6-DCP的含量变化及其作用进行了研究。以阐明交配行为模式和2,6-DCP的含量变化及其作用。

1 材料与方法

1.1 蜱的来源和喂养

长角血蜱饱血若虫采自北京门头沟区黄塔乡羊耳上。在实验室光照培养箱(27±1)℃;

* 国家自然科学基金资助项目

1996-09-10 收稿, 1997-03-17 收修改稿

RH75%；光照 18 h 中培养。若虫蜕皮为成虫。饥饿成虫、幼虫和若虫均在兔耳上饱血，非寄生期培养在光照培养箱中。

1.2 生物测定

在宿主体背面选择一直径 8 cm 的圆形区域，去毛后用一锥形布袋封闭。将雌蜱（25 只）和雄蜱（25 只）放入布袋内。将 8 cm 的圆形区域分为相等的左（L）和右（R）两部分。1~2 天后成蜱附着在宿主皮肤上吸血，分别将 L 中的雌蜱和 R 中的雄蜱去掉，L 中的雄蜱和 R 中雌蜱各保留 20 只。4~5 天后观察下列 5 种情况下雄蜱在 L 和 R 中的分布数量：（1）未处理（作为对照）；（2）用凡士林将吸血后 2 天雌蜱的盾窝堵塞；（3）在（2）处理后连续 3 天点滴丙酮溶液，每天 1 μL ；（4）在（2）处理后连续 3 天点滴标准 2,6-DCP（10 $\text{ng}/\mu\text{L}$ ），每天 1 μL ；（5）在（2）处理后连续 3 天点滴吸血后 1~2 天雌蜱盾窝腺提取物（1 盾窝腺/ μL ），每天 1 μL 。以上 5 种情况各重复 6 次。

1.3 气相色谱

1.3.1 2,6-DCP 的提取：将吸血后不同时间的雌蜱（10~30 只）在实体解剖镜下解剖，将盾窝腺取出放入 KD 浓缩器中，加入适量（约 0.2 mL）丙酮，用超声波破碎组织，置低温冰箱放置过夜。然后加 25 μL PFB-Br 标准衍生试剂和数粒无水碳酸钾，摇匀后封闭。将 KD 浓缩器下部（含样品部分）浸入 65℃ 恒温水浴中反应 1 h。取出 KD 浓缩，冷却至室温，用氮气吹干丙酮，正己烷定容至 0.5 mL^[9]。

1.3.2 色谱条件：色谱柱为两个填充柱，柱 1：2 000 mm×3 mm 玻璃填充柱，5% 的硅油-1，Chromosorb W AW-DMGS 60~80 目和 3% QF-1 Chromosorb W AM-DMGS 60~80 目（1：1）混合均匀后填充，柱温 145℃，汽化室及检测器温度 250℃，用高纯氮作载气，纸速为 2 mm/min；柱 2：2 000 mm×3 mm 不锈钢填充柱，5% SE-30，SW DW-DMGS 60~80 目，柱温 155℃，其它条件同柱 1^[9]。

1.3.3 仪器和试剂：日本岛津 GC-9A 气相色谱仪，63Ni 电子捕获检测器。衍生试剂 PFB-Br 为美国 Aldrich Chemical Co. 产品，其丙酮标准溶液浓度为 232.4 mg/L，标准 2,6-二氯酚为 Sigma Chemical Co. 产品，其丙酮标准溶液浓度为 1.352 mg/L。丙酮、己烷为北京化工厂产品（分析纯）。

2 结果

2.1 长角血蜱的交配行为

根据雄蜱的行为特征，将长角血蜱的交配行为分为 7 个时期：（1）雄蜱离开吸血附着点寻找性活动的雌蜱；（2）趋向并接近性活动的雌蜱；（3）接触并攀登到雌蜱的背面；（4）从雌蜱身体后端或侧面转向腹面，此时雌蜱后端常常抬起；（5）雄蜱在腹面刺探以确定雌蜱生殖孔的位置，并与雌蜱腹面相对，两者的附肢交叉在一起。通常是雄蜱的第一对附肢插入到雌蜱的第二和第三对附肢间；（6）雄蜱的盾板弯曲，将螯肢插入雌蜱生殖孔刺探；（7）精英形成，螯肢将精英送入雌蜱生殖孔。交配后雄蜱在雌蜱附近再叮咬吸血。

一般情况下，每只雌蜱附近有一只雄蜱。当雄蜱的数量多于雌蜱时，雌蜱附近常常有 2

~3 只雄蜱，但只有一只雄蜱与之交配。

2.2 生物测定

将宿主体背面 8 cm 的圆形区域分为相等的左（L）和右（R）两部分，成虫吸血后 L 和 R 中各分别保留 20 只雄蜱和 20 只雌蜱。吸血后 4~5 天分别观察 5 种处理下雄蜱在 L 和 R 中的分布，结果见表 1。

表 1 各种处理下雄蜱在 L 和 R 中的分布
Table 1 The distribution of males in L and R at various treatment

处理组别	L 中蜱数量(只)	R 中蜱数量(只)	处理组别	L 中蜱数量(只)	R 中蜱数量(只)
Groups treated	No. in L(ind.)	No. in R(ind.)	Groups treated	No. in L(ind.)	No. in R(ind.)
A. 对照	2	18	C. 丙酮	8	12
Control	2	18	Acetone	11	9
	4	16		14	6
	1	19	D. 2,6-DCP	3	17
	3	17		5	15
	3	17		6	14
				3	17
B. 堵塞盾窝	8	12		2	18
Fovea blocked	9	11		4	16
	12	8			
	13	7	E. 盾窝腺提取物	5	15
	11	9	Extract of foveal gland	5	15
	10	10		6	14
				4	16
C. 丙酮	11	9		11	9
Acetone	13	7		8	12
	9	11			

用非参数检验的秩和检验（rank sum test）方法对 5 种处理下雄蜱在 L 和 R 中的分布进行检验，A、D 和 E 三种处理，雄蜱在 L 和 R 中的分布差异显著（ $P<0.01$ ），B 和 C 不显著（ $P>0.05$ ）（表 2）。

用非参数的 Kruskal-Wallis 检验对 A、B、C、D 和 E 五组雄蜱在 R 中的分布作整体比较，总体分布差异显著（ $\chi^2=22.816$ ， $df=4$ ， $P<0.01$ ）。

非参数检验的 Wilcoxon-wilcox 秩和检验结果，AB、AC 间差异显著（ $P<0.01$ ），AD、AE 间无差异（ $P>0.05$ ）。再将 BC、DE 分别做秩和检验，BC 间差异不显著（ $P>0.05$ ），DE 间有差异（ $P<0.05$ ）。

表 2 各种处理下雄蜱在 L 和 R 中的分布
检验（rank sum test）

Table 2 The distribution test of males in L and R at various treatment (rank sum test)

组别 Groups	χ^2	P
A	8.4255	0.0037
B	0.7894	0.3743
C	1.6882	0.1938
D	8.3662	0.0038
E	7.4624	0.0063

2.3 雌蜚吸血期2,6 -DCP 的含量变化

吸血不同时间和饱血后雌蜚盾窝腺中2,6 -DCP 含量见表 3, 气相色谱见图 1。吸血后 1~2 天含量最高 (11.12 ng/只)。吸血后 3 天开始下降, 但维持在一较恒定的水平 (3~5 天)。交配后即吸血 6~7 天明显下降, 饱血后下降为零。

表 3 雌蜚吸血期2,6 -DCP 的含量变化

Table 3 The variation of 2,6 -DCP during female feeding peroid			
生理时期	天	实验个体数(只)	2,6-DCP 含量(ng/只)
Physiological stage	Day	No. of tested (ind.)	2,6-DCP concentration(ng/ind.)
吸血	1~2	10	11.12 ± 1.86
Feeding	3	10	8.24 ± 1.23
	4	10	8.65 ± 1.52
	5	10	8.86 ± 1.35
交配后	6~7	10	4.12 ± 0.83
After mating	8	10	2.47 ± 0.47
饱血后	0	30	0.00
After engorgement			

3 讨论

长角血蜚的交配行为分为 7 个时期, 其行为模式与 So-nenshine^[1]描述的后沟类硬蜚行为模式相同。生物测定结果: A、D 和 E 中雄蜚在 L 和 R 中的分布差异显著 ($P<0.01$), 表明雄蜚受雌蜚释放的信息素所吸引, 这种信息素的有效成分 是 2,6 -DCP 并由盾窝腺产生。堵塞盾窝 B 阻断雄蜚的行为反应, 说明 2,6 -DCP 通过雌蜚盾窝释放。组间整体比较, 总体分布差异极显著。但 Wilcoxon-wilcox 秩和检验中 D 和 E 间存在差异 ($P<0.05$), 这种差异可能是 2,6 -DCP 提取过程中丢失, 生物测定中所用提取物量不足所致。

质盾腺中性信息素 2,6 -DCP 含量变化反映了这种化合物的生物合成、储存、释放、排空 以及 与交配行为的关系。是动物长期演化中形成的一种生理适应。吸血后 1~2 天其含量最高 (11.12 ng/只), 表明吸血前已开始合成, 并储存在腺体中, 为完成其行为调节功能做好了准 备。吸血后 3~5 天即交配前含量下降, 储存的 2,6 -DCP 开始不断地释放。此期内含量较恒 定, 表明有新的信息素合成。吸血后 6~8 天即交配后含量明显下降, 饱血后降为零。李莹^[8] 在亚洲璃眼蜚 *H. asiaticum asiaticum* 中用 X-衍射微区分析测定盾窝表面氯的含量, 交配前 含量最高, 2,6 -DCP 释放量最大。长角血蜚交配前盾窝腺中 2,6 -DCP 含量下降是由于不断释 放的结果。

性信息素 2,6 -DCP 已在 5 属 14 种硬蜚中发现, 它可能是后沟类硬蜚中普遍存在的性信

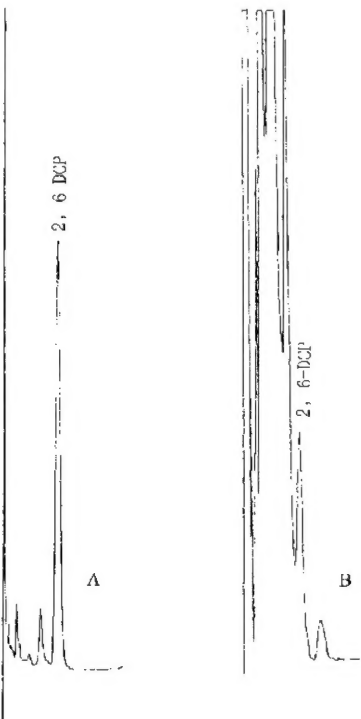


图 1 性信息素 2,6 -DCP 气相色谱图

Fig. 1 Representative chromatogram of 2,6 -DCP obtained with GC
A: 标准样品; B. 吸血后 1~2 天盾窝腺提取样品

息素^[10]。2,6-DCP 是种间的, 无种属差异, 多数种类的雄蜱能被2,6-DCP 激发以趋向性活动的雌蜱, 但嗜驼璃眼蜱 *H. dromedarii* 和璃眼蜱 *H. anatolicum excavatum* 例外, 它们在同一宿主相同位置上吸血, 前者的雌蜱释放高浓度的2,6-DCP 以驱赶后者的雄蜱; 而前者的雄蜱被同种的雌蜱吸引, 但不能感受后者释放的低浓度2,6-DCP^[5]。这两种蜱已发生种间隔离, 使配偶在求偶过程的开始就能区分同种个体。

除2,6-DCP 以外, 交配行为的完成还依赖于其他性信息素的调节以实现种的识别。变异革蜱 *D. variabilis*^[11]、嗜驼璃眼蜱和血红扇头蜱 *R. sanguineus*^[12]中存在第二种性信息素——攀缘性信息素 (mounting sex pheromone, MSP), 用于引导雄蜱的攀缘行为。变异革蜱和安氏革蜱 *D. andersoni* 交配行为的完成必须感受第三种性信息素——生殖性信息素 (genital sex pheromone, GSP)^[12,13]。长角血蜱是否存在 MSP、GSP 或其它性信息素有待进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- 1 Sonenshine D E. Biology of ticks. New York: Oxford University Press. 1991, 1: 331
- 2 邓国藩, 姜在阶. 中国经济昆虫志, 第三十九册, 蜱螨亚纲, 硬蜱科. 北京: 科学出版社, 1991, 195
- 3 Berger R S, Duka J C, Chow Y S. Demonstration of a sex pheromone in three species of hard tick. J. Med. Entomol., 1971, 8: 84~86
- 4 Berger R S. 2,6-dichlorophenol, sex pheromone of the lone star tick. Science, 1972, 177: 704~705
- 5 Silverstein R M, West J R, Sonenshine D E *et al.* Occurrence of 2,6-dichlorophenol in hard ticks, *Hyalomma dromedarii* and *Hyalomma anatolicum excavatum*, and its role in mating. J. Chem. Ecol., 1983, 9: 1543~1549
- 6 Wood W F, Leahy M G, Galun R *et al.* Phenols as pheromones of ixodid ticks: a general phenomenon? J. Chem. Ecol., 1975, 1: 501~509
- 7 Sonenshine D E, Silverstein R M, Collins L A. The foveal glands, source of sex pheromone production in the tick *Dermacentor andersoni* Stiles. J. Chem. Ecol., 1977, 3 (6): 695~706
- 8 李莹, 姜在阶. 硬蜱盾窝腺释放性信息素. 昆虫学报, 1992, 35 (2): 148~152
- 9 李惠林, 张帆, 杨亦萍等. 化学衍生电子捕获气相色谱法测定硬蜱性外激素2,6-二氯酚. 北京师范大学学报 (自然科学版), 1989, 4: 90~91
- 10 Sonenshine D E. Pheromones and other semiochemicals of the Acari. Annu. Rev. Entomol., 1985, 30: 1~28
- 11 Hamilton J G C, Sonenshine D E, Lusby W R. Cholesteryl oleat: mounting sex pheromone of the hard tick *Dermacentor variabilis* (Say) (Acari: Ixodidae). J. Insect Physiol., 1989, 35: 873~879
- 12 Sobhy H, Aggour M G, Sonenshine D E *et al.* Cholesteryl esters on the body surfaces of the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Koch, 1844) and the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). Exp. & Appl. Acarol., 1994, 18: 265~280
- 13 Sonenshine D E, Khalil G M, Hornsher P J *et al.* *Dermacentor variabilis* and *Dermacentor andersoni*: Genital sex pheromones. Exp. Parasitol., 1982, 54: 317~330
- 14 Taylor D, Phillips J S, Sonenshine D E *et al.* Ecdysteroids as a component of the genital sex pheromone in two species of hard ticks, *Dermacentor variabilis* and *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae). Exp. & Appl. Acarol., 1991, 12: 275~296

ROLE OF SEX PHEROMONE, 2,6-DICHLOROPHENOL, IN THE MATING BEHAVIOUR OF *HAEMAPHYSALIS* *LONGICORNIS* (ACARI: IXODIDAE)

Liu Jingze^① Jiang Zaijie^② Li Zhonglai^② Yang Yiping^② Sun Ruyong^②

(^①Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016; ^②Beijing Normal University, Beijing 100875)

Abstract The mating behaviour of *Haemaphysalis longicornis* consisted of 7 stages. Bioassay suggested that male response was regulated by the sex pheromone secreted by females. Blocking up female fovea, male response was inhibited; while topical application of 2,6-DCP or extract of female foveal glands could restore it. A highest level of 2,6-DCP content (11.12ng/individual) was reached during the 1st~2nd day after attachment when analysis by GC. The amounts of 2,6-DCP declined on the 3rd~5th day after attachment just before mating, but maintained at a relatively constant level. After mating, it declined significantly and became undetectable after engorgement.

Key words *Haemaphysalis longicornis*, 2,6-DCP, mating behaviour